

# Metodika odběru vzorků pro forenzní dokazování v případech wildlife crime



CENTRUM ENVIRONMENTÁLNÍCH  
FOREZNÍCH VĚD

Ústav pro životní prostředí  
Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy



Autoři:

- Mgr. Pavla Říhová
- RNDr. Dominika Formanová, Ph.D.
- Mgr. Zdeněk Novák
- Bc. Arthur F. Sniegou



Poděkování za konzultace a spolupráci:

- Univerzita Karlova: prof. RNDr. Tomáš Cajthaml, Ph.D., doc. RNDr. Jan Votýpka, Ph.D., RNDr. Jakub Trubač, Ph.D., RNDr. Zdena Škrob, Ph.D.
- Česká společnost ornitologická: Mgr. Zdeněk Vermouzek, Klára Hlubocká
- Ústav jaderné fyziky AV ČR: Ing. Kateřina Pachnerová Brabcová, Ph.D.
- Ústav biologie obratlovců AV ČR: Mgr. Jarmila Krojerová, Ph.D.
- Česká zemědělská univerzita: Mgr. Barbora Černá Bolfíková, Ph.D.
- Kriminalistický ústav Policie ČR: Ing. Hana Šuláková, Ph.D., Mgr. Lucie Cuchalová, Ph.D.
- Veterinární univerzita Brno: MVDr. Lucia Frgelecová, Ph.D.
- Generální ředitelství cel: Mgr. Martin Kašpar (odbor podpory pátrání), Ing. Blanka Králová (Celně technická laboratoř)
- Česká inspekce životního prostředí: Mgr. Martin Marko

Příručka je elektronicky ke stažení zde:

<https://forensics.natur.cuni.cz/odber-vzorku/>

T A  
Č R

Projekt č. SS05010146 Metodika odběru vzorků pro forenzní dokazování v případech wildlife crime byl spolufinancován se státní podporou Technologické agentury ČR a Ministerstva životního prostředí v rámci Programu Prostředí pro život ([www.tacr.cz](http://www.tacr.cz); [www.mzp.cz](http://www.mzp.cz)).

## Obsah

	strana
Odběry vzorků v případech wildlife crime	2
Morfologie	5
Genetika	7
Patologie	20
Toxikologie	25
Radiouhlíkové datování	28
Chemie	29
Parazitologie	31
Forenzní entomologie	33
Analýza stabilních izotopů	35
Další možné stopy či vzorky	36
Ochranné pomůcky, osobní bezpečnost	38



*Ohledání samice tetřeva (foto Zdeněk Novák)*

## Odběry vzorků v případech wildlife crime

Základním předpokladem pro využití forenzních metod při šetření případů wildlife crime je zajištění potřebných stop, jejich náležitá dokumentace a uchování včetně správně provedeného odběru vzorků pro forenzní zkoumání. Pro různé forenzní metody jsou zapotřebí různé typy vzorků, jež se mohou lišit nejen typem biologického materiálu, ale i potřebnou velikostí, způsobem fixace, požadavky na uskladnění apod. Při odběrech a následné manipulaci je třeba zamezit znehodnocení vzorků např. biologickým rozkladem nebo kontaminací. Klíčové je rovněž udržení důkazního řetězce.

Odběry vzorků pro forenzní analýzy lze rozlišit na:

- **odběry z živých zvířat**, které vyžadují adekvátní postupy. Za určitých situací (invazní zásahy např. odběry krve) musí úkon provádět způsobilá osoba, tj. veterinární lékař.
- **odběry z neživých exemplářů**, jejich provedení záleží na typu exempláře a požadované metodě zkoumání.

### Vybavení pro odběry vzorků

K odběrům vzorků je zapotřebí vybavení a nástroje (doporučení viz níže). Velikost a tvar odběrových nádob je nutno volit podle typu a množství odebíraného materiálu, zvolené forenzní metody a způsobu dalšího využití vzorku. Vhodnější jsou nádoby z plastu (sklo se může rozbít).

#### Přehled vybavení pro odběry:

- ✓ skalpel, chirurgické nůžky
- ✓ anatomická pinzeta, jehla
- ✓ stěrka na trus
- ✓ elektrická vrtačka (vrtáky různého průměru)
- ✓ minibuska, kleště
- ✓ nitrilové rukavice
- ✓ vatové tampony
- ✓ tampony typu FLOQSwabs
- ✓ páska na sejmutí DNA z povrchů
- ✓ sklíčka na krevní roztěry
- ✓ 96% ethanol
- ✓ roztok DNA Removal
- ✓ roztok typu DNA/RNA Shield
- ✓ filtrační papír Whatman, FTA karty
- ✓ desinfekční ubrousky

#### Materiál pro balení:

- ✓ odběrové zkumavky různé velikosti
- ✓ větší plastové nádobky
- ✓ plastové pytle
- ✓ sáčky se zip uzávěrem
- ✓ papírové obálky, sáčky, krabice
- ✓ sáčky typu Stericlin
- ✓ bublinková fólie
- ✓ pevný uzavíratelný kontejner na přepravu pytlů s biologickým materiálem
- ✓ nádoba na ostré předměty
- ✓ krabice na vejce
- ✓ entomologické krabice
- ✓ těsnicí pásky, plomby
- ✓ alobal
- ✓ chladicí taška/box

Odběrové nádoby musí být označeny **unikátním identifikačním popisem či unikátním číslem**. Není vhodné pouze číslovat jednoduchými pořadovými

číslky nebo číslky stop (při odběrech na více místech či z více zdrojů může dojít k použití stejných čísel, což vede k problémům a možným záměnám).

Při odběrech používejte **rukavice a sterilní nástroje!** Nástroje před odběrem očistěte/sterilizujte nebo používejte jednorázové. Sterilizaci lze provést:

- opláchnutím 96% ethanolem a prostředkem pro odstranění DNA (DNA Removal),
- potřením dezinfekčními ubrousky s ethanolem či chlornanem sodným např. Mikrozid AF,
- postřikáním dezinfekčním prostředkem, opláchnutím destilovanou vodou (nechat uschnout),
- v nouzových podmínkách (terén) lze opláchnout 96% ethanolem a vypálit nad plamenem (sirky, zapalovač).

V případě většího množství vzorků či vzorků z více různých jedinců je nutné nástroje sterilizovat i mezi jednotlivými odběry (eliminace vzájemné kontaminace) nebo mít k dispozici více sad nástrojů.

Pro některé typy vzorků a odběrů existují speciální sady (např. FLOQSwabs tampony apod.).

### Balení a transport

Způsob balení musí odpovídat typu zajištěné stopy či vzorku (viz další kapitoly).

Vlhké předměty (i se zbytkovou vlhkostí) obecně nesmí být baleny do neprodyšných obalů (igelit), pokud nejsou bezprostředně předány do



*Zajištěná vyčíněná kožešina rysa připravená k zabalení (foto Pavla Řihová)*

laboratoře nebo zamrazeny. Vlhkost způsobuje rychlou degradaci biologických stop (plísně, bakterie). Vzorky a stopy tohoto typu balte do prodyšných nebo poloprodyšných obalů, aby mohly postupně vysychat (papírové sáčky, obálky, sterilizační sáčky Stericlin propustné pro páry a vzduch atd.). Vysychající stopy dávejte do dvojího balení – např. tampony FLOQSwabs se vkládají do plastového pouzdra/zkumavky, do níž se před vložením tamponu udělá sterilním nástrojem otvor, aby byl zajištěn dostatečný přísun vzduchu nutného k vyschnutí tamponu. Zkumavka se poté vloží do prodyšného obalu (papírová obálka).

Další možností je vlhké důkazy/vzorky zamrazit, uložit do odběrové nádoby s 96% ethanolem, roztokem typu DNA/RNA Shield apod.

Suché stopy/vzorky balte do papírových obálek, krabic, bezpečnostních sáčků (orgatechy), pytlů, nádob s těsnícím víkem atd. V případě využití plastových pytlů (větší předměty) by pytle neměly být naplněny více než do 3/4, aby bylo možné je snadno zavázat nebo uzavřít páskou.

K převozu předmětů/vzorků vyžadujících chlad využijte termoboxy, namražené ledové patrony apod., v případě nouze lze pro menší vzorky použít např. i termohrnek s ledem. Větší předměty ve vozidle je nutno zajistit proti pohybu, pytle je vhodné uložit do plastových sudů, kbelíků či boxů s víkem.

### Důkazní řetězec

Důkazní řetězec je kontinuální zaznamenávání všech změn, které se týkají zajištěného důkazu (odebrané vzorky jsou součástí dokazování). Jde o záznam o osobách, které měly fyzicky předmět v držení a o činnostech, které s předmětem/vzorkem byly prováděny.

Jakékoli nakládání s důkazem, jeho přemístění, předání k odbornému vyjádření, zkoumání, znaleckému posudku, provedení odběru vzorku z předmětu atd. musí být řádně zdokumentováno, aby se zabránilo případným pochybnostem o nedovolené manipulaci či záměně.

Každé předání musí probíhat s **předávacím protokolem** a oproti podpisu, důkazy musí být skladovány zabezpečené a činnosti (včetně procesů při jejich zkoumání) musí být zaznamenány a zdokumentovány. Pokud mají být důkazy u soudu přípustné, musí s nimi být náležitě zacházeno včetně doložení chronologické historie nakládání s důkazem a nezpochybnitelnosti důkazního řetězce.

## Morfologie

Morfologie je nejčastěji používaná metoda sloužící k determinaci druhů a posouzení jednotlivých exemplářů živočichů i rostlin. Zabývá se tvarem a vnější stavbou organismů. Mohou být zkoumány makroskopické znaky (tvar, barva, struktura, specifické charakteristiky), lze však využít i znaky mikroskopické. Morfologicky by měl být vždy zkoumán co nejúplnější exemplář či jeho část, která je k dispozici. Z toho důvodu se pro morfologické zkoumání **vzorky neodebírají** (s výjimkou determinace dřeva).

### Co lze morfologicky zkoumat

- **živočichové** - celí jedinci (živí, mrtví, mražení, zakonzervovaní např. v lihu, vyuzení, preparovaní, vycpaní atd.), jednotlivé části jejich těl (kosti, stažené kadávery, kůže, kožešiny, zuby, slonovina, drápy, rohovina...)
- **výrobky z těl živočichů** - při morfologickém zkoumání záleží, zda jsou zachovány klíčové znaky v rozpoznatelné podobě (např. slonovinu lze obvykle celkem jednoznačně rozeznat od jiných materiálů i od zubů jiných skupin zvířat)
- **srst, vlna** - mikroskopické zkoumání (trichologie viz dále)
- **peří** - druhy ptáků lze rozlišit hlavně dle krycích per (tj. vnější obrysové peří, letky a rýdovací pera), vnitřní prachové peří je pro morfologickou determinaci nevhodné
- **vejce** - identifikace je možná u ptáků s barevně a tvarově specifickými vejci, u druhů s čistě bílými vejci není možná
- **sbírky bezobratlých** - motýli, brouci, měkkýši ad.
- **rostliny** - celé rostliny (živé, zmražené, zakonzervované v lihu, usušené, vylišované herbářové položky), fragmenty rostlin, semena, plody ad.
- **dřevo** - morfologická determinace je obvykle možná do úrovně rodu (jen výjimečně druhu) a vyžaduje odběr vzorku. Zkoumání je prováděno makroskopicky či mikroskopicky dle stavby dřeva na různých plochách řezu.



*Lebka tygra, chrup dosud plně nepřezuběný (foto Zdeněk Novák)*



*Zkoumání končetin vlka (foto Pavla Řihová)*

## Balení

Variabilita předmětů předávaných k morfologickému zkoumání je značná a způsob balení tak závisí na charakteru dané věci. Postup konzultujte s odborníky přizvanými k realizaci, se zpracovateli odborného vyjádření či znaleckého posudku. Je nutno zohlednit stav zajišťovaného exempláře, aby nedošlo k jeho poškození při přepravě, příp. k degradaci rozkladem.

Mrtvá těla zvířat, jejich části a jiné předměty podléhající rozkladu co nejdříve zchladíte a zamrazíte. Drobné předměty (fragменты kostí, zuby, drápy...) balte do separátních obalů, aby nedošlo při manipulaci s exemplářem k jejich ztrátě. Křehké či ostré předměty (zobáky, rohy, zlomené kosti ad.) obalte více vrstvami obalového materiálu.

*Některé exempláře vyžadují speciální balení, zde preparát sedícího medvěda hnědého zabalený při realizaci do bublinkové fólie (foto Celní správa)*



## Fotografování

Pokud není možné exemplář fyzicky předat ke zkoumání, je za určitých okolností možné i jeho posouzení podle fotografií nebo videa. Může jít např. o situaci, kdy při realizaci není přítomen odborník a je třeba rozhodnout, zda se může jednat o chráněný druh.

- Předmět vyfotografujte v **celkovém pohledu ze všech stran a z různých úhlů** (jedna fotografie nestačí). Fotografie by měly zachytit i polohu věci/stopy před manipulací s ní (přehledové fotografie).
- Dále **vyfotografujte polodetaily a detaily**, které mohou být důležité pro determinaci či posouzení exempláře. Fotografování detailů, pokud možno, konzultujte s expertem, který bude exemplář posuzovat (jde o upřesnění, jakým způsobem konkrétní exemplář nasnímat a které detaily mohou být podstatné). K úspěšné identifikaci mohou přispět jakékoli další informace s nálezem spojené (lokalita, stav, okolnosti).
- Fotografie musí být ostré s dobře patrnými detaily. Důležité je přiložení měřítko těsně k fotografovanému předmětu, aby bylo možné určit jeho velikost. Místo měřítko lze provizorně použít jakýkoli předmět, který lze následně změřit (tužku apod.). Fotografie ponechte v co nejvyšším rozlišení, neupravujte je a nekomprimujte.
- Videozáznam doplňuje pořízení fotografií. Za určitých okolností např. pokud je třeba předmět otáčet (odečítání kroužku na noze ptáka) či zdokumentovat znak, který nelze zachytit na jediné fotografii, je videozáznam nepostradatelný.



## Genetika

Při odběrech vždy používejte **rukavice a roušku!**

Vhodným postupem uchování u většiny typů vzorků je jejich **vysušení**, které se provádí umístěním do prodyšných či poloprodyšných obalů (papírové sáčky, obálky, sterilizační sáčky Stericlin propustné pro páry a vzduch atd.), v nichž k vysychání dochází samovolně. Vysychající stopy dávejte do **dvojiho balení** (např. odběrové tampony vložte do plastové zkumavky, do které předem uděláte sterilním nástrojem otvor, aby byl zajištěn dostatečný přísun vzduchu potřebného k vysychání; zkumavku poté vložte do papírové obálky). Vyschlé vzorky jsou fixované a stabilizované na měsíce až roky.

Vlhké/mokrě vzorky (měkké tkáně, trus apod.) odebírejte do plastových dobře těsnících nádob či zkumavek a co nejdříve **zamrazte**, aby nedocházelo k degradaci DNA. Je možné tyto vzorky před zamražením **stabilizovat 96% ethanolem** (nepoužívejte denaturovaný!). Vzorek musí být v takovém případě plně ponořený (poměr ve zkumavce - 1/3 objemu vzorek, 2/3 ethanol). Postup uchování vzorku je vždy lepší předem konzultovat s laboratoří, která bude danou genetickou analýzu zpracovávat (laboratoře mohou mít odlišné požadavky).

Vlhké předměty (i se zbytkovou vlhkostí) nebalte do neprodyšných obalů (igelit), pokud nejsou bezprostředně předány do laboratoře nebo zamrazeny. Vlhkost způsobuje rychlou degradaci biologických stop (plísňe, bakterie).

### Měkké tkáně

- Měkké tkáně a svalovinu (včetně tepelně upraveného masa, čerstvého masa či kůže) odebírejte do plastových uzavíratelných zkumavek.
- Pomocí sterilního skalpelu a pinzety odeberte cca **1-2 cm<sup>3</sup>** (kvůli možné kontaminaci odebírejte z vnitřních vrstev materiálu, nikoli z povrchu). U celých mrtvých zvířat je možné odebrat vzorek *Odběr vzorku z kůže tygra (foto Vít Lukáš)* odstrižením některé periferní části (kousek ucha, ocasu).
- Vložte do zkumavky a zmrazte na **-20 °C**. Skladujte v mrazáku, převážejte v termoboxu. Před zamražením je možné vzorek zafixovat 96% ethanolem.
- Zaschlé zbytky tkání lze seškrabat z povrchu předmětů či hladkých ploch. K seškrabu použijte sterilní skalpel, materiál seškrabte na kousek



*Odběr vzorku z kůže tygra (foto Vít Lukáš)*

navazovacího papíru. Poté ho vložte do prodyšného nebo poloprodyšného obalu (papírové sáčky, sterilizační role a sáčky typu Stericlin apod.).

- Sušené maso lze skladovat v uzavíratelných sáčcích nebo zkumavkách se silikagelem při pokojové teplotě.

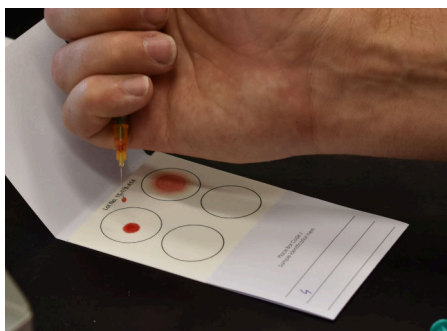
## Krev

### *Odběry krve u živých zvířat*

- Krev živých zvířat odebírá veterinární lékař. Odběr je prováděn sterilní odběrovou jehlou do zkumavky. Případné přidání antikoagulantů (EDTA) předem konzultujte s laboratoří, která bude vzorek zpracovávat.
- Zkumavky s krví lze krátkodobě skladovat v lednici při teplotě 2-6 °C. Pro dlouhodobé skladování zkumavky zmrazte.

### *Odběry krve na filtrační papír*

- Krev z živých zvířat, čerstvých kadáverů, čerstvých krevních stop lze odebrat na filtrační papír. Z malého množství krve (i sražené) vytvoříte malou (<1 cm) skvrnu na filtračním papíru. Nejvhodnější je použít speciální **FTA karty** nebo **filtrační papír Whatman**.
- Po zaschnutí vzorek umístíte do obálky a uchovávejte v pokojové teplotě na suchém místě, mimo dosah slunečního světla.



*Vzorky krve na filtračním papíru  
(foto Dominika Formanová)*

### *Krevní stopy*

- Krevní stopy zajišťujte primárně i s předmětem, na němž krev ulpěla (nůž, past atd.).
- Nelze-li zajistit krevní stopu s jejím nosičem, odeberte vzorek stíráním **savým odběrovým tamponem** (hlavička z vaty, bavlny...), který je označen jako DNA free.
- Čerstvé (stále vlhké) skvrny setřete suchým tamponem.
- U zaschlé krve nejprve navlhčete hlavičku tamponu kapkou destilované vody (lepší je použít vodu označenou jako DNA free). Použijte kapátko. **POZOR** - tampon nesmí být přemokřený, jinak se ztrácí jeho savost a stopa může být příliš naředěna! Navlhčeným tamponem přetřete zaschlou krev. Kapku destilované vody lze také kápnout přímo na zaschlou krev a po chvilce rozmočení setřít suchým tamponem.

- **Tampony uložte následujícím způsobem:**

- Do víčka zkumavky (součást setu tamponu) udělejte sterilními nůžkami dostatečný otvor umožňující přístup vzduchu (nutno k vysychání tamponu).
  - Do zkumavky vložte tampon, odlomte jeho delší část a zkumavku s hlavičkou tamponu zavíčkujte.
  - Vložte do obálky či papírového sáčku. Skladujte při pokojové teplotě.
  - Při použití speciálních samovysoušecích tamponů se silikagelem není nutné nastříhávat zkumavku či dělat otvor do víčka.
- Současně s odběry doporučujeme provést i **kontrolní stěr** k otestování případné přítomnosti kontaminující DNA na tamponu nebo v destilované vodě. Navlhčete hlavičku tamponu destilovanou vodou, vložte do zkumavky (postup viz výše), uzavřete a označte jako kontrolní stěr.
  - Vzorky z větších zaschlých krevních skvrn odeberte **seškrábnutím** do papírového nebo jiného poloprodyšného obalu (např. sáčky Stericlin, Quick Clean, Eurosteril). Lze je seškrábnout rovněž do mikrozkušavky (udělejte otvor do víčka kvůli vysychání zbytkové vlhkosti a uložte do papírové obálky).
  - Skvrny od krve na ledu nebo sněhu setřete savým odběrovým tamponem či převedte na filtrační papír, který necháte vyschnout (postupy viz výše). Další možností je sběr do plastové zkumavky s 96% ethanolem (do vzorku nabírejte co nejméně sněhu). Poměr by měl být 1/3 vzorek a 2/3 ethanolu. Pokud je krve jen málo, je lepší nabraný sníh/led pouze zamrazit (nedávat ethanol. Skladujte v mrazáku při -20 °C.



*Krev zastřeleného rysa na sněhu  
(foto Josefa Volfová)*

- Krev vsáklou do písku či zeminy odeberte včetně materiálu, do něž je vsáklá (nabírejte co nejmenší množství materiálu, aby stopa nebyla příliš „naředěna“). Nechte vyschnout (prodyšný obal) nebo uložte do plastové nádoby a následně zamrazte.

## Trus

- Trus odbírejte čerstvý, maximálně 3-5 dní starý. V terénu lze sbírat i ze sněhu.
- Odběr vzorku lze provést pomocí stěru tamponem (buňky epitelu střeva ulpívají na povrchu trusu) nebo odběrem přiměřené části exkrementu.

- **Stěr tamponem:**

- Pomocí FLOQ tamponu setřete celý povrch exkrementu. Tampon vložte do zkumavky s předem udělaným otvorem ve víčku (k zhotovení otvoru použijte sterilní nůžky). Zavíčkujte a zkumavku uložte do papírové obálky/sáčku.

- **Odběr vzorku trusu:**

- Odběr proved'te lžičkou, špachtlí, v terénu lze i kouskem dřeva apod. Pokud odebíráte více vzorků (od různých zvířat), na každý nový vzorek použijte nový nástroj nebo ho sterilizujte.
- Odeberte vzorek o **velikosti lískového oříšku** do plastové těsnicí nádoby. Cílová DNA (buňky epitelu střeva) je v povrchové vrstvě, proto odebírejte materiál z vnějšího povrchu trusu, případně můžete odebrat celou „slizkou“ koncovou část exkrementu.
- Odebrané vzorky trusu uchovávejte v mrazáku při  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vzorek můžete před uložením do mrazáku zafixovat 96% ethanolem, nádoby neplňte více než do poloviny. Vzorek by měl být zcela ponořený, vhodný poměr je 1/3 vzorku a 2/3 ethanolu. V ethanolu lze vzorek krátkodobě skladovat i při pokojové teplotě či na chladném tmavém místě.
- Čerstvý trus se dá fixovat také pomocí silikagelu (poměr vzorku - 1/3 trusu a 2/3 silikagelu), tento postup je obvykle volen v podmínkách, kde dochází k rychlému vypařování ethanolu např. při sběrech v tropických oblastech.
- Další možností je uložení vzorku do roztoku typu **DNA/RNA Shield** (vyrábí firmy Zymo Research, Biomatrix...), což je speciální roztok pro uchování nukleových kyselin a inaktivaci patogenů. Takto zafixované vzorky lze skladovat při pokojové teplotě (garance až 30 dnů). Roztok je však poměrně drahý.

## Moč

- Vlhkou čerstvou moč odebírejte savým odběrovým tamponem. U zaschlé moči tampon nejprve navlhčete kapkou destilované vody (DNA free). Tampon po odběru vložte do tamponové zkumavky, do níž jste předem udělali sterilními nůžkami otvor do víčka (nutné pro vyschnutí tamponu). Zkumavku vložte do papírové obálky a skladujte při pokojové teplotě.
- Moč ze sněhu odebírejte z nejkonzentrovější části skvrny (nejvíce žluté místo). Odeberte cca čajovou lžičku moči se sněhem do zkumavky. Vzorky skladujte v mrazáku při  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

## Sliny

- Sliny lze odebrat ze stržené kořisti nebo z rány způsobené zvířetem.
- Použijte **vatový odběrový tampon**. Štětíčkou tamponu setřete okolí rány, kde se mohou nacházet sliny predátora. Snažte se vyhnout krvi

zabitého zvířete. Druhý stěr pak proveďte přímo z rány. Můžete rovněž odstrihnout srst z okolí rány (odstríženou srst uložte do papírové obálky).

- Tampon vložte do tamponové zkumavky, do jejíhož víčka jste předem udělali sterilními nůžkami otvor (přístup vzduchu je důležitý pro vyschnutí vzorku). Zkumavku vložte do papírové obálky, uzavřete a skladujte při pokojové teplotě.
- Další možností je vložení tamponu se vzorkem do roztoku typu **DNA/RNA Shield** (vyrábí firmy Zymo Research, Biomatrix...), což je speciální roztok pro uchování nukleových kyselin a inaktivaci patogenů. Takto zafixované vzorky lze skladovat při pokojové teplotě (garance je minimálně 30 dnů). Roztok je však poměrně drahý.

## Bukální stěry

- Pro bukální stěry z živých zvířat použijte **vatové tampony** nebo **nylonové odběrové tampony typu FLOQ Swabs**. Odběr by měla provádět osoba zkušená v manipulaci se zvířaty.
- Vhodnější je provést **odběr z nozder** než z tlamy. U odběru z nozder nehrozí kontaminace DNA z případné potravy či ze vzájemného olizování více jedinců.
- Jemně zasuňte štětičku tampónu do nosního otvoru a důkladně oťřete o stěny nosní dutiny. V případě odběru z tlamy stačí zasunout štětičku tampónu pod pysk (bezprostředně před odběrem by zvíře nemělo požívat potravu, ani olizovat jiné zvíře).
- Tampon vložte do zkumavky, do jejíhož víčka jste sterilními nůžkami udělali otvor (důležité pro vyschnutí vzorku). Zkumavku vložte do papírové obálky, uzavřete a skladujte při pokojové teplotě.



*Bukální stěr tygra  
(foto Dominika Formanová)*

## Stěry lidské DNA

Místo činu wildlife crime by mělo být standardně zkoumáno i co se týče lidské DNA:

- ✓ odhozené nedopalky cigaret, žvýkačky a plechovky od nápojů;
- ✓ předměty, s nimiž bylo manipulováno jako je nářadí, nože, rukavice, trubičky ze souprav na vyfukování vajec atd;
- ✓ skvrny od krve způsobené zraněním při používání nářadí, lezení na stromy nebo manipulaci se zvířaty;
- ✓ místa dotyku ruky na vejcích použitých jako otrávená návnada;
- ✓ místa dotyku na nastražených pastech, železech;
- ✓ vnitřní povrchy pašovaných zásilek atd.

Při odběrech vždy **používejte rukavice a roušku!** Toto zkoumání je zaměřeno na detekci lidské DNA, při nevhodné manipulaci může snadno dojít ke kontaminaci vzorku ze strany odebírající osoby. Osoby, které manipulovaly se stopami, by si měly nechat provést kontrolní bukalní stěry, které budou označeny jako „domácí osoby“. DNA profily z těchto stěrů se nekládají do policejní databáze, slouží pouze k vyloučení daného profilu ze zkoumání při podezření, že došlo ke kontaminaci.

- Přenositelné předměty zajistíte celé, uložte je odděleně do dvou prodyšných obalů (papírové sáčky, obálky, sáčky Stericlin propustné pro páry a vzduch apod.) a zašlete do laboratoře.
- Pokud není možné zajištění celého předmětu, proveďte **plošný stěr** oblasti, kde je nejpravděpodobnější dotyk podezřelého (na povrchu zůstávají v místě dotyku uvolněné epitelální buňky).
- Sejmутí vzorků dotykové DNA z větší plochy je bohužel nereálné, proto je třeba se pokusit co nejvíce **upřesnit oblast**, kde by dotyková DNA možného pachatele mohla být. **Dotykovou DNA lze sejmout i ze srsti savců a peří ptáků.** U kadáverů zvířat, která někdo přenášel či s nimi jinak manipuloval, je nejpravděpodobnější oblastí úchopu koncová část končetin (zápatí, zápěstí), konec či kořen ocasu, případně krk. Vejce používaná jako návnada jsou obvykle držena v nejširší části apod.
- Stěry proveďte co nejdříve, ještě před jakoukoli manipulací s předměty ze strany osob přítomných ohledání.
- Stěry dotykové DNA proveďte **odběrovým tamponem typu FLOQ** (např. FLOQSwabs od Copan, Prionics set of Forensix) nebo **odběrovou lepicí páskou** (např. Forensic DNA Grade). Páska je však poměrně drahá a v ČR se prakticky nepoužívá.

• **Odběr pomocí FLOQ tamponu:**

- Navlhčete štětičku tamponu 1-2 kapkami destilované vody (DNA free voda). K navlhčení použijte kapátko!



- Navlhčeným tamponem důkladně setřete cílovou oblast, kde předpokládáte dotyk podezřelého. Je třeba, aby tampon prošel několikrát cílovou oblastí pod určitým tlakem, při pohybu tamponem otáčejte, aby mohla být využita jeho plná plocha. Stěry se doporučuje odebrat dva (případně opakovaní extrakce).

*FLOQ tampony (foto Zdeněk Novák)*

- Tampon po použití vložte do odběrové zkumavky, do níž jste předem udělali **sterilními nůžkami otvor** (přístup vzduchu kvůli vyschnutí tamponu), odlomte tyčinku a zkumavku uzavřete.

Zkumavku vložte do papírové obálky či sáčku, skladujte při pokojové teplotě.

- Lze použít i tampony s aktivním vysoušečem, u nichž není zapotřebí dělat do odběrové zkumavky otvor pro přístup vzduchu.



*Postup uložení odebraného vzorku do zkumavky (foto Zdeněk Novák)*

- **Odběr pomocí lepicí pásky:**

- Odstraňte krycí fólii z lepicí části pásky. Opakovaně přitlačte proužek pásky přes cílovou oblast (dokud páska nepřestane lepit). Pásku poté uložte do odběrové zkumavky, která je součástí setu, uzavřete a skladujte při pokojové teplotě.

## Srst

- Chlupy odebírejte vytrhnutím (u nekontaktních zvířat je třeba co nejrychlejší provedení). Nejvhodnější je vyškubnutí rukou v chirurgické rukavici, použití pinzety není tak efektivní (pinzeta chlupy často neudrží). Vytrhněte cca **10-15 chlupů** i s kořínky (v chlupové cibulce/ folikulu je nejvíce DNA). S chlupy manipulujte za špičku, ne za kořínek.
- Lze sbírat i chlupy vypadané (srst zachycená na drbacích místech, v průchodech, na plotech, vyleželých místech ve sněhu apod.), výtěžnost analýzy DNA je však nízká, záleží na stáří chlupů. V těchto případech



*Odběr vzorku srsti tygra (foto Dominika Formanová)*

sbírejte maximální možné množství chlupů. U masožravců dejte pozor, aby nebyly sbírány chlupy z konzumovaných zvířat (v ubikacích jich bývá mnoho).

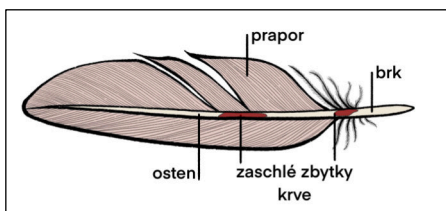
- Odebrané chlupy uchovávejte v suchu v pokojové teplotě v papírových obálkách (při vyjímání chlupů z obálky je na místě vysoká pečlivost a případně i prosvícení zdrojem světla, aby chlupy nebyly v rozích obálky přehlédnuty). Zcela vyschlý materiál lze uchovávat v plastových sáčcích.
- Další možností je vložení chlupů do plastových mikrozkušavek (epruvety 1,5 nebo 2 ml) a zalití 96% ethanolem. Zkušavky uchovávejte v mrazáku při  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Výhodou epruvety je viditelnost chlupů (v papírové obálce mohou být přehlédnuty či vysypány).

## Peří

- Nejvhodnější na extrakci DNA jsou obrysová pera se silným brkem.
- Peří odebírejte vytržením 3-4 pírka z oblasti prsou ptáka. Pírka je potřeba vytrhnout (nestříhat), aby byla zachována špička brku se zbytky tkáně či krve.
- Extrahovat DNA lze i z per vypelichaných (menší výtěžnost DNA), nesbírejte peří znečištěné trusem. K analýze se využívá zaschlá krevní sraženina, která se nachází uvnitř brku cca v místě, kde začíná prapor pera. Analyzovat tímto způsobem lze i pera několik let stará.
- Odebraný materiál skladujte v pokojové teplotě a v uzavíratelných papírových sáčcích.



*Odběr peří ary hyacintového  
(foto Zdeněk Novák)*



*Krevní sraženina uvnitř ostnu pera  
(kresba David Říha)*

## Vejsce

- Genetickou analýzu lze provést ze skořápek po vylíhnutí mláděte (analyzuje se blanka na vnitřní straně skořápky) nebo z obsahu vejce, je-li neživotaschopné. Nejvhodnější je zaslat skořápky či vejce do laboratoře celé.
- Skořápky uskladněte v prodyšném obalu, aby mohlo probíhat vysychání. Další možností je využití silikagelu nebo fixace 96% ethanolem.
- Celá vejce je nutno skladovat v chladu či v mrazáku při  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .



## Kaviár

- V případě, že se jikry jeví jako homogenní, odeberte ideálně 5–10 jiker.
- Pokud jikry vzhledově vypadají heterogenně např. mají odlišnou barvu či velikost (je možné, že pochází z různých druhů ryb), odeberte minimálně 5 jiker z každé odlišné části či balení.
- Vzorky uložte do 96% ethanolu (poměr by měl být 1/3 vzorek a 2/3 ethanolu) a uchovávejte v mrazáku při -20 °C.

## Zuby, slonovina

- Zuby či předměty z nich vyrobené **zajistěte celé**. Uložte do prodyšného obalu (v případě zbytkové vlhkosti) nebo plastového sáčku (zcela suché předměty).
- Odběry těchto vzorků se **neprovádějí na místě**, ale až následně v místě uskladnění či v laboratoři.
- Z větších zubů/klů se vzorek pro analýzu DNA získává odvrátáním, menší zuby se rozemelou celé. Zubní materiál je velmi tvrdý, proto je nutné použít vhodné nástroje.
- Při odvrátání zubů má větší výtěžnost DNA materiál **dřené z vnitřku zubu**, je proto třeba vrtat především v oblasti kolem dřevové dutiny a získat cca 1–1,5 ml prášku.
- Možností je rovněž odříznutí kořene zubu nebo jeho části (používá se např. při odběru vzorků z preparovaných lebek; odříznutý zub lze po odběru vlepít zpět do lebky a zásah není viditelný). K odběru lze využít např. minifrézku Dremel. Při řezání je vhodné nasazení obličejového štítu (odletují kousky). Pokud má být zub po odběru vrácen zpět do lebky, neřežte kořeny přes nejsilnější místo (zub by otvorem propadl a nedržel by na místě).
- U slonoviny záleží na tom, zda je vzorkován celý kel nebo vyřezaný předmět.
  - U klů se **vzorek odřezává z báze klu** (konec, který byl spojen s lebkou), odkud kel roste a kde je také nejvíce koncentrována DNA. Vzorek by měl mít rozměry přibližně 3 cm x 3 cm a tloušťku 1 cm. Pokud je základna klu velmi tenká, je vhodnější začít řezat ve vzdálenosti několika centimetrů od báze, aby konečný vzorek byl alespoň 5 mm tlustý. K řezání se používá elektrická bruska s kotoučem, kotoučová pila apod. Kotouč pily po řezání každého vzorku je třeba očistit 10% roztokem



Odebrané vzorky slonoviny  
(foto Zdeněk Novák)

bělidla (100 ml bělidla na 900 ml destilované vody) nebo 96% ethanolem.

- U vyřezaných předmětů záleží na tom, nakolik lze předmět poškodit. Pro úspěšnou analýzu DNA je potřeba odvrtnat cca 1,5 g materiálu. Vhodnější je vrtat z báze předmětu, kde je následný otvor méně viditelný.
- Odebraný materiál skladujte v uzavíratelných sáčcích nebo zkumavkách při pokojové teplotě.

## Kosti

- Kosti zajistěte celé a zašlete do laboratoře. POZOR na posloupnost zkoumání – pokud mají být kosti posouzeny morfologicky, musí být toto provedeno ještě před genetickým zkoumáním (morfolog musí kosti dostat kompletní a neporušené, tj. ještě před provedením odběrů pro genetické analýzy).
- Vlhké kosti uložte do plastových sáčků a zamrazte při -20 °C, převážejte v termoboxech. Vyschlé kosti balte do prodyšných nebo poloprodyšných obalů (papírové obaly, sáčky typu Stericlin apod.). Vypreparované a zcela suché kosti lze balit do plastových pytlů.
- Odběry vzorků z kostí se neprovádějí na místě, ale až v laboratoři či v místě uskladnění (genetici odběry provedou sami).
- Menší kosti se využijí celé (rozemelou se). Z větších kostí se odvrstávají vzorky. Při vrtání je vhodné cílit na místa, kde není kost dutá, případně na místa, kudy vedly cévy. Pokud se na kosti nachází zbytky tkání, vazů či šlach, nebo je zachovalá kostní dřev, jsou tyto tkáně vhodnějším zdrojem DNA (mají větší výtěžnost než kostní tkáň).

## Rohy, parohy

- Rohy či parohy zajistěte celé a zašlete do laboratoře. POZOR na posloupnost zkoumání – pokud mají být rohy/parohy posouzeny morfologicky, musí být toto provedeno ještě před genetickým zkoumáním (morfolog musí dostat předměty kompletní a neporušené, tj. ještě před provedením odběrů pro genetické analýzy).
- Odběry vzorků z rohů či parohů se **neprovádějí na místě**, ale až v laboratoři (genetici odběry provedou sami). Vzorky se odřezávají pomocí pilky nebo pilníku, případně odvrstávají.
- Speciálním postupem se vzorkují **nosorožčí rohy**:
  - K odběru použijte elektrickou vrtačku a vrtáky o průměru cca 4-5 mm.
  - Vrtejte uprostřed rohu v místě jeho základny nebo z jeho boku.
  - Při vrtání udržujte velmi nízké otáčky, aby nedošlo k nadměrnému zahřátí vrtáku. Rychlým vrtáním zničíte DNA. Pokud je cítit spálený keratin (zápach pálených vlasů), vrtáte příliš rychle.
  - Odvrtejte několik spirálovitých hoblin. Vložte je do plastové uzavíratelné zkumavky a skladujte při pokojové teplotě. Vzorky musí být vždy uchovávány mimo dosah přímého slunečního světla.

- Na každý další vzorek použijte nový vrták nebo použitý vrták sterilizujte.
- Pokud jsou rohy již ve formě odštěpků, hoblin nebo prášku, není třeba vrtat, pouze odeberte vzorek.



*Odběr vzorku z rohu nosorožce  
(foto Dominika Formanová)*



*Vzorky z rohu z nosorožce a kontrola  
identifikačního značení rohu čipem  
(foto Dominika Formanová)*

### Drápy, šupiny a další keratinové deriváty

- Drápy, šupiny apod. zajistěte celé a zašlete do laboratoře. **POZOR** na posloupnost zkoumání – pokud mají být drápy, šupiny ad. posouzeny morfologicky, musí být toto provedeno ještě před genetickým zkoumáním (morfolog musí dostat předměty kompletní a neporušené, tj. ještě před provedením odběrů pro genetické analýzy).
- Odběry vzorků z drápů, šupin ad. se **neprovádějí na místě**, ale až v laboratoři (genetici odběry provedou sami).
- Vzorky se odebírají navrtáním nebo odlomením/odstrížením kousku drápu či šupiny. Lze také odebrat tenkou vrstvu keratinu z části drápu, která je blíž prstu. Pro jednu izolaci je obvykle třeba cca 50-250 mg materiálu.
- V případě vrtání udržujte nízké otáčky (viz nosorožčí rohy). Odeberte několik odvrтанých spirálovitých hoblin. U šupin odeberte 1-2 šupiny (u menších zvířat i více). Přednostně odebírejte šupiny, na nichž ulpěly zbytky kůže (větší výtěžnost DNA). Pokud jsou šupiny ve více baleních (např. zásilky luskouních šupin), odeberte z každého balení min. 1 šupinu.
- Suché vzorky uchovávejte v prodyšných obalech při pokojové teplotě. Pokud jsou vzorky vlhké, tak uchovávejte zamražené při -20 °C.



*Luskouní šupiny  
(foto Dominika Formanová)*

## Kůže, kožešiny, taxidermické preparáty

Analýzy DNA jsou úspěšnější u surových, nasolených či zasušených kůží. Finálně vyčiněné kůže a kožešiny obsahují mnoho chemických inhibitorů, z nichž především chromité soli poškozují DNA. Míra úspěšnosti analýz DNA u tohoto typu exemplářů je velmi nízká.

Při analýzách vzorků z vycpanin je třeba brát zřetel na možnost tzv. **fake taxidermy**. Preparátoři často doplňují chybějící či poškozené části těla zvířete zbytky z jiných jedinců. Vycpaný preparát tak může být složen z více zvířat. V případě potřeby je nutno odebrat vzorky z více míst na preparátu.

- Kůže, kožešiny či vypeparované exponáty zajistíte celé. Suché předměty balte do plastových či papírových pytlů, větší exponáty obalte bublinkovou fólií. Vlhké předměty zamrazte.
- Odběry vzorků z kůží, kožešin či vycpanin se **neprovádějí na místě**, ale až v místě uskladnění, příp. v laboratoři (genetici odběry provedou sami). Malé předměty lze doručit do laboratoře, u větších je vhodnější domluvit s genetikem odběry v místě uskladnění zajištěných předmětů.
- Z kožešin se vzorek odebírá odstřížením pomocí sterilních nůžek (odstřížení cca 5 cm<sup>2</sup>). Pro jednu izolaci DNA je potřeba min. 200 mg materiálu. U čerstvé či zasušené nevyčiněné kůže je úspěšnost analýzy DNA podstatně větší než u vyčiněných kožešin.
- Pokud jsou na kožešině či preparátu zachovány tlapy (šelmy), lze se pokusit odebrat vzorek navrtáním nášlapných polštářků (uvnitř může být seschlý materiál, který nemusí být tolik narušen chemickými činidly).
- Pokud nelze kožešinu poškodit, je možné zkusit vytrhnout chlupy s chlupovými cibulkami (nestříhat). Pravděpodobnost úspěšnosti analýzy u chlupů z vyčiněných kožešin je však nízká.
- Suché vzorky skladujte při pokojové teplotě a v prodyšných obalech. Čerstvé či vlhké vzorky uchovávejte v mrazáku při -20 °C.



*Odběr vzorku z tlapy preparovaného mláděte rysa (foto Pavla Řihová)*

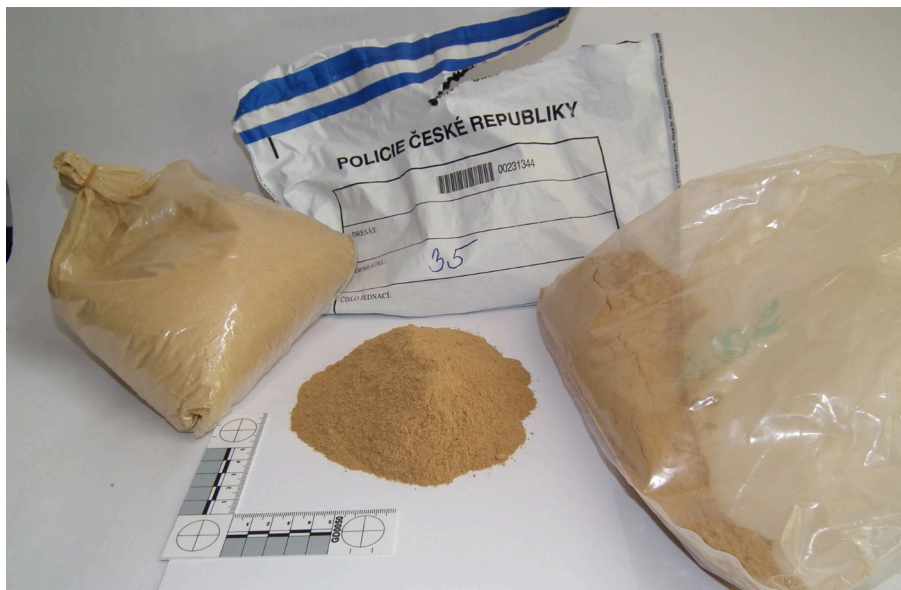
## Tradiční medicína

Přípravky tradiční medicíny mohou být v podobě tablet, mastí, náplastí, kapek, výluhů, sušených směsí, částí tkání, sypkých prášků atd.

- Materiál zajistíte vcelku a v původním balení.
- Odběry vzorků z tradiční medicíny se **neprovádějí na místě**, ale až v místě uskladnění, příp. v laboratoři (genetici odběry provedou sami).

Možnost analýzy a množství odebraného materiálu konzultujte předem s expertem či laboratoří.

- Při zvažování zadání genetické analýzy berte v potaz **definici exempláře** dle nařízení Rady (ES) č. 338/97 (čl. 2 písm. t), která uvádí, že exempláři druhů uvedených v přílohách A-D se rozumí rovněž jakékoli zboží, u něhož je obsah daného druhu deklarován v průvodním dokladu, na obalu, etiketě či štítku.
- Vzorky prášků, suchých přípravků, extraktů, výluhů či krémů odebírejte do plastových zkumavek či uzavíratelných nádob. Uchovávejte při pokojové teplotě (u extraktů či výluhů může být dle jejich stavu vhodnější uchování v lednici). Co se týče množství doporučujeme odebírat raději větší objem (alespoň 100 ml) pro možné opakování analýzy.
- V případě žluči odeberte do plastové zkumavky minimálně 1–2 ml žluči či krystalků. Skladujte při pokojové teplotě. Pokud je zajištěn celý žlučník, předejte ho do laboratoře kompletní. Pokud je žlučník vlhký, skladujte v mrazáku při -20 °C (krátkodobě lze uchovat v lednici). Vyschlý žlučník skladujte v prodyšném obalu (vysychání) při pokojové teplotě.



*Prášek z tygra využívaný ve vietnamské komunitě jako tradiční medicína  
(foto Dominika Formanová)*

## Patologie

Veterinární patologické vyšetření je klíčovou součástí zkoumání, pokud se jedná o mrtvá zvířata. Cílem je určit, zda k úhynu zvířete došlo z přirozených či nepřirozených příčin. Patolog může určit nejen příčinu smrti, způsob provedení (např. tupé trauma, zastřelení) a důvod (např. srážka s vozidlem), ale může rovněž zjistit, zda zvíře bylo týráno či definovat příčiny špatného zdravotního stavu. Pro účely patologie se přímo **na místě nálezů vzorky neodebírají**, kadávery či jejich pozůstatky se zajišťují celé. Potřebné vzorky odebírá až veterinární patolog během zkoumání.

Ne všechna nalezená uhynulá zvířata byla nelegálně zabita, k mnoha úhynům v přírodě dochází v důsledku nemocí, stáří, vnitrodruhových soubojů či predace. Zvířata mohou uhynout i kvůli srážkám s vozidly či vlaky. Rozlišit tyto situace v terénu často nelze - ne všechna sražená zvířata umírají bezprostředně na místě (zvláště větší druhy mohou poodejít dále od silnice či



*Sražený rys v Beskydech  
(foto Michal Bojda)*

I jiné příčiny úhynu si lze bez detailnějšího patologického vyšetření snadno splést - vstup zubu při kousnutí špičákem šelmy může vypadat jako střelná rána, pták zasažený elektrinou do oblouku se může nacházet v pozici podobné charakteristické poloze těla při otravě karbofuranem atd. Zvířata chycená do ok či pastí bývají následně dostřelena nebo dobita, důvodem smrti tak nemusí být přímo past (na jejich těle mohou zůstat stopy po zaškrcení, úderech či střelbě).



*Otisk těla upytlačeného rysa ve sněhu  
(foto Josefa Volfová)*

trati, než kvůli vnitřnímu krvácení či prasklým orgánům vykrvácí). Pytláci také mohou naaranžovat zastřelené zvíře vedle silnice či trati, aby vypadalo jako sražené (v ČR byly případy tohoto typu opakovaně zaznamenány u upytlačených vlků). Vizually na povrchu těla může střelné poranění vypadat jako srážka s vozidlem a naopak. Čili nalezení zvířete na poli nebo v lese nevylučuje kolizi s vozidlem a nalezení zvířete u silnice či trati nevylučuje pytláctví!

Specifická bývá situace při pytláčení rysů či vlků, kdy je kadáver obvykle lovcem odnesen jako trofej a nezůstává na místě. I tak je však za určitých okolností možné v terénu zajistit stopy – krev či zbytky srsti zvířete, otisk jeho těla ve sněhu či v půdě, otisky stop pachatele, pneumatik jeho vozu atd.

Patologické vyšetření je prováděno makroskopicky (**pitva**) a mikroskopicky (**histologické vyšetření orgánů a tkání**). Histopatologické vyšetření tkání může prokázat, zda jde o staré či čerstvé zranění (je důležité např. u případů týrání). Obvykle jsou při patologickém vyšetření odebrány vzorky pro další potřebné analýzy např. toxikologii.

Nejúplnější informace o příčině smrti lze získat z čerstvých nezmražených kadáverů. Proces zmrazení ničí buňky (po rozmrazení buňky popraskají a vylíje se z nich hemoglobin), tkáňová situace imituje překrvení a histologické vyšetření pak nedává reálný obraz (některé tkáně jsou k tomuto poškození méně náchylné např. kosterní svalovina). U zmražených kadáverů nelze provést ani bakteriologické vyšetření (bakterie rovněž v mrazu popraskají). Je proto důležité, pokud to situace umožňuje, kadáver před pitvou **nemrazit, ale pouze zchladit** a doručit co nejdříve na příslušné veterinárně patologické pracoviště.

Posmrtné procesy však probíhají, byť zpomaleně, i v chladu, zchlazení proto může trvat max. **24 hodin**. Jestliže do této doby neproběhne pitva, je lepší kadáver rovnou zamrazit. Reálnou situaci a postup (zchlazení x zmrazení) je vždy lepší **konzultovat s patologem**.

Rychlost posmrtných procesů, které nastupují prakticky okamžitě po smrti, ovlivňují různé okolnosti. Pokud je čerstvě uhynulé zvíře umístěno do lednice, záleží i na velikosti jeho těla a příčině smrti, za jak dlouhou dobu dojde ke snížení teploty kadáveru. Jestliže bylo zvíře tlusté, zemřelo v důsledku křečí, horečky, má silné rouno (ovce), tělo i v lednici chladne mnohem pomaleji a i při zchlazení může dojít rychle k vnitřní autolýze.



*Upytlačený vlk na Broumovsku v pokročilejším stádiu rozkladu  
(foto Jan Koranda)*

Mrtvá zvířata ve wildlife případech jsou často nalézána v pozdějších fázích rozkladu, v takovém případě je potřeba **kadáver zmrazit co nejdříve** (histologické vyšetření již mnoho neukáže).

### Na místě

- Při manipulaci s kadávery používejte ochranné pomůcky (viz kapitola Ochranné pomůcky, bezpečnost práce).
- Manipulaci s kadávery zvířat na místě činu provádějte uvážlivě a raději ji omezte na minimum, abyste zabránili ztrátě možných důkazů, např. vypadnutí úlomků střely, které se mohou nacházet v blízkosti rány. Na perí či srsti zvířete mohou ulpět vlákna z oděvu pachatele, na určitých částech těla může ulpět i dotyková DNA, pokud dotyčný s tělem manipuloval.
- Pokud došlo na místě zabití i k vyvržení zvířete, vyvržené vnitřnosti by měly být rovněž zajištěny a zkoumány (možná přítomnost střel).
- Pokud jsou na místě pasti, nástrahy či návnady, mohou se na nich nacházet otisky či DNA pachatele. Pachatelé chodí pasti kontrolovat (zvláště jestřábí koše s živou návnadou), v okolí tak mohou být další stopy.
- K nalezení střel v terénu lze využít příruční detektor kovů, jímž lze orientačně ověřit přítomnost střely ve zvířeti, pokusit se nalézt střelu, která prošla tělem apod. Následně před pitvou by však měl být proveden i rentgen kadáveru, protože menší kovové částice nemusí být detektorem zachyceny.



*Upytlačený rys na Vimpersku s vyhrýzými vnitřnostmi (foto Luděk Bufka)*

### Balení kadáverů a přeprava

- S kadávery manipulujte v rukavicích a balte je důkladně do několika plastových pytlů, abyste předešli úniku tekutin a pachů. Obložte ostré hrany (zobáky, drápy, zuby, zlomené kosti...). U kadáverů v pokročilejším stádiu rozkladu při podezření na zástřel zvířete je možné i odkopat a zajistit zem pod tělem, kam mohla střela či její fragmenty vypadnout



*Hlava bobra – exemplář je nutno balit do nepropustného obalu s ohledem na únik tekutin (foto Dominika Formanová)*



(patologové z tohoto důvodu často pitvají střelená zvířata na savých plenách, aby nic nevypadlo).

- Umístěte do chladu/mrazu a po dohodě s veterinárně patologickým pracovištěm co nejdříve **přepравte na pitvu**. Pokud jde o dočasné zchlazení (max. 24 hodin) před provedením pitvy, mělo by jít o chladné místo či lednici. Lednice či mrazáky využívané k uskladnění kadáverů nesmí být používány na jídlo pro lidi či zvířata.
- Pokud pitvu nelze provést bezprostředně (záleží i na možnostech veterinárního pracoviště), kadávery zamrazte. Těla ve vyšším stupni rozkladu zamrazte ihned. Návnady při podezření na otravu lze rovněž skladovat zamražené.
- V případech **hromadných úhynů ryb** se kadávery ryb předávají v chlazeném stavu (nezmražené). U více-druhové obsádky odeberte 3-5 ks od každého druhu (třídte dle pohlaví a hmotnosti), u jedno-druhové obsádky pak 5-20 ks. Pokud je to možné, zajistěte i živé ryby s příznaky poškození (převážejte k analýze v původní vodě). Zároveň odeberte vzorek vody o objemu 2-4 litry (nejlépe do skleněné vzorkovnice) a sediment ze dna toku o váze cca 2 kg. Odběry vzorků vody a sedimentu proveďte nad místem úhynu (v místech předpokládaného znečištění), v místě úhynu ryb a pod místem úhynu. Vzorky ukládejte do chladu a co nejrychleji převezte do toxikologické laboratoře. V případě, že transport trvá déle, vzorky zamrazte.
- V přepravním prostoru auta umístěte zabalené kadávery do nepropustné vany/boxu či na nepromokavou podložku. Na dno můžete pro jistotu umístit absorbent, kdyby došlo k úniku tekutin. Vhodné je využít chlazení i po dobu přepravy, pokud je k dispozici (např. umístění do termoboxu a použití namražených patron).



*Kadávery dravců nalezené u podezřelého v mrazáku byly zabaleny separátně a přepraveny na pitvu (foto Pavla Říhová)*

## Předání na pitvu

- Veterinárnímu patologovi sdělte veškeré potřebné informace (vhodné je i poskytnutí fotografií) jako je lokace a pozice kadáveru, popis lokality a souvislosti celého místa (les, louka, blízkost vody, pozice kadáveru na slunci, ve stínu, teplota prostředí atd.).
- Všechny kadávery, u nichž je podezření na zastřelení, musí být **zrentgenovány PŘED pitvou!** Pomocí rtg lze vyloučit či potvrdit střelné poranění, lokalizovat broky (včetně „vyhojených“) a kovové částice v těle, objevit fraktury vzniklé při polytraumatech atd. Samotné

vnější ohledání před pitvou nebývá dostačující, vzhled zranění může být zavádějící (zvíře sražené autem může vypadat jako střelené a naopak), vstupy broků v srsti či peří nemusí být na povrchu těla vidět atd.

- Po vyjmutí kadáveru z obalu je nutno pečlivě prozkoumat i obal, zda se v něm nenachází nějaké důkazy, které by během přepravy z těla vypadly (úlomky střel).
- Během pitvy jsou prováděny dle potřeby odběry vzorků pro toxikologické, bakteriologické, virologické vyšetření ad.



*Vnější ohledání zabitě vydry  
(foto Dominika Formanová)*



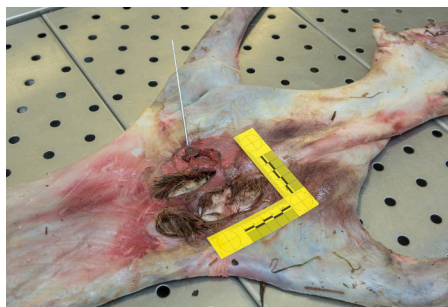
*Zastřelený rys ostrovid  
(foto Celní správa)*



*Fragment střely vyjmutý z těla  
upytláčeného bobra  
(foto Pavla Říhová)*



*Označení vstupního a výstupního otvoru  
po střele na kůži rysa ostrovida  
(foto Pavla Říhová)*



*Výstupní otvor střely bývá obvykle  
výrazně větší než vstupní, zde kůže rysa  
ostrovida (foto Pavla Říhová)*

## Toxikologie

V případech otrav živočichů se **kadávery živočichů a případné návnady zajišťují celé**. Na místě nálezu v terénu se vzorky pro toxikologické analýzy neodebírají, odebírá je veterinární lékař v průběhu pitvy zvířete.

V případech s podezřením na otravu karbofuranem můžete přímo na místě nálezu použít **speciální rychlotesty**, kterými lze orientačně ověřit přítomnost reziduí karbofuranu. Cena jednoho testu je cca 150 Kč. Vyzkoušené jsou **testy Smark!T CBF** od firmy Nankai Biotech Co., Ltd. ([www.nkbiotech.com](http://www.nkbiotech.com)). **Upozornění: testy se nesmí skladovat v mrazáku.**

### Postup použití rychlotestu:

- Vatovým tamponem vyčtete tlamu, zobák či krk mrtvého zvířete příp. otřete návnadu.
- Tampon vložte do zkumavky, příp. lze do zkumavky vložit i celý menší vzorek (cca 2 g, ideálně více menších kousků).
- Přidejte 6 ml roztoku „A“ (A Solution) a 30 vteřin intenzivně třepajte.
- Roztok se vzorkem nechte v klidu odstát.
- Odsajte pipetou 1,5 ml vrchní vrstvy roztoku a v další zkumavce ho promíchejte s 3 ml PBST bufferu (ředění 1:2).
- Pipetou naberte 0,1 ml smíchané tekutiny a aplikujte na tester (část „S“).
- Po 3-5 minutách můžete odečíst výsledek testu. Pokud je přítomen karbofuran, objeví se tmavě červený proužek v části „C“.



*Použití rychlotestů v terénu  
(foto Klára Hlubočká/ČSO)*

### Balení kadáverů otrávených zvířat

- Kadávery balte do pevných plastových pytlů příp. do dvou pytlů přes sebe. Každý jednotlivý nálezu dávejte do zvláštního pytle, označte číslem, zavažte, zapečete a zaznamenejte polohu nálezu. V některých případech (např. více menších ptáků stejného druhu) lze zabalit více kadáverů do jednoho pytle.
- Menší návnady, zbytky tkání či zvratky sbírejte do menších



*Otrávená vejce použitá jako návnada,  
zřetelné vpichy po aplikaci jedu  
(foto Klára Hlubočká/ČSO)*

- plastových pytlů (orgatechy).
- Seberte **mrtvý hmyz** ležící na kadáveru, v jeho okolí či pod ním. Hmyz umístíte do plastové zkumavky.
- Nejbezpečnější postup při **balení kadáveru otráveného zvířete**:
  - Připravte si 2 plastové pytle. Navlékněte si dvoje rukavice přes sebe.
  - Srolujte 1. pytel, položte tělo zvířete na dno a vyrolujte pytel zpět nahoru (lze také uchopit kadáver přes pytel a přetáhnout přes tělo). Dávejte pozor, abyste neznečistili pytel zvenčí tekutinou z těla.
  - Není vhodné kadáver do pytle házet – náraz o dno zvedne aerosol a prach, který lze vdechnout. Při zavírání pytle a vytlačování vzduchu z něj držte otvor pytle směrem od sebe. Při manipulaci je vhodné použít roušku.
  - Po uzavření 1. pytle svlékněte svrchní znečištěný pár rukavic a vhodte ho do 2. pytle, do kterého zároveň vložíte 1. pytel s tělem. S 2. pytlem už manipulujte jen ve spodních čistých rukavicích (tím zajistíte, že na vnějším povrchu balení nebude znečištění pocházející z kadáveru). Spodní rukavice před uzavřením 2. pytle svlékněte a přihoďte dovnitř. Pytel zvnějšku dobře označte, aby bylo patrné, že obsahuje rizikový materiál.

## Přeprava kadáverů

- V přepravním prostoru auta umístíte zabalené kadávery do nepropustné vany/boxu či na nepromokavou podložku. Na dno můžete pro jistotu umístit absorbent, kdyby došlo k úniku tekutin. Vhodné je využití chlazení po dobu přepravy, pokud je k dispozici (např. umístění do termoboxu a použití namražených patron).
- Pokud je nutno kadávery dočasně uskladnit před provedením pitvy, umístíte je na chladné místo či do lednice (zamražení změní histologický nález, návnady lze skladovat zamražené. Lednice či mrazáky využívané k těmto účelům nesmí být používány na jídlo pro lidi či zvířata.



*Otrávený orel mořský  
(foto Klára Hlubocká/ČSO)*

## Odběr vzorků pro toxikologické vyšetření

Vzorky pro toxikologické analýzy se neodebírají na místě nálezu, ale odebírá je veterinární lékař v průběhu pitvy.

- Nejdůležitějším vzorkem je **obsah žaludku zvířete (u ptáků i obsah volete), zvratky a návnada**, v nichž jed ještě není metabolizovaný. Dále se obvykle odebírají **vzorky jater**, kde však jsou toxiny již metabolizované. Důležité mohou být vzorky mrtvého hmyzu, který lze rovněž analyzovat na přítomnost toxinů.

- **Doporučené typy vzorků při podezření na:**

- **karbofuran** - obsah žaludku, zvratky, předpokládaná návnada, játra, hmyz

- **rodenticidy** - obsah žaludku a samotný žaludek, játra, ledviny, obsah střev včetně střeva

- **Stutox II** - játra, ledviny (tkáně musí být odebrány co nejdříve a skladovány ve vzduchotěsné a nerozbitné nádobě, protože plynný fosfan je velmi těkavý)

- **těžké kovy** - játra, ledviny, v některých případech krev

- **farmaka** - játra, ledviny, krev a moč.



*Karbofuran  
(foto Dominika Formanová)*

- Vzorky musí odebrány do plastových těsnících uzavíratelných nádob, které se dále balí do plastových sáčků (princip dvojitého balení). Měly by být skladovány a přepravovány **zmrazené při teplotě -20 °C**. Zásadní je přesné označování nádob, dodržování důkazního řetězce a používání vhodných ochranných pomůcek, jelikož mnoho látek může být pro člověka nebezpečných.
- V případech **hromadných úhynů ryb** se na toxikologické vyšetření předávají kadávery ryb v chlazeném stavu (nezmražené). U více-druhové obsádky se odebírá 3-5 ks od každého druhu (třídít dle pohlaví a hmotnosti), u jedno-druhové obsádky pak 5-20 ks. Pokud je to možné, zajišťují se i živé ryby s příznaky poškození (převáží se k analýze v původní vodě). Zároveň je nutno odebrat vzorek vody o objemu 2-4 litry (nejlépe do skleněné vzorkovnice) a sediment ze dna toku o váze cca 2 kg. Odběry vzorků vody a sedimentu se provádí nad místem úhynu (v místech předpokládaného znečištění), v místě úhynu ryb a pod místem úhynu. Obecně se vzorky ukládají do chladu a co nejrychleji převáží do toxikologické laboratoře. V případě, že transport trvá déle, vzorky se mrazí.

## Radiouhlíkové datování

Vzorky pro radiouhlíkové datování se **neodebírají přímo na místě zajištění**. Odběry se provádí následně v místě uskladnění předmětů nebo v laboratoři. Vzorky se NESMÍ dávat do papírových obálek (kontaminace vzorku uhlíkem z papírových vláken). Ideální je odběr do **plastových uzavíratelných sáčků, čtverečků z alobalu nebo plastových zkumavek/vialek**.

### Pevné vzorky (kosti, slonovina, rohovina...)

- Předmět při odběru položte na povrch pokrytý alobalem, nikoli na papír.
- Vzorek odebírejte navrtáním (vrták očistěte 96% ethanolem), příp. odříznutím menšího kusu pomocí minibrusky. Vrtejte velmi pomalu! Pod vrtaný otvor položte menší čtvereček alobalu na zachycení odvrtného materiálu.
- Minimální množství odebrané tvrdé tkáně je **100 mg materiálu**. Pokud je to možné, odeberte materiálu více (200 mg). Množství průběžně odvažujte na miniváze.
- Odvrtný materiál sesypte do plastové či skleněné zkumavky.
- U předmětů ze slonoviny vzorek **odebírejte zespodu z báze** (způsobený otvor je méně viditelný).
- Kly či větší předměty vzorkujte v podélném směru na 2 místech.
- Vzorky nosorožčích rohů odebírejte u báze rohu, zhruba uprostřed.



*Odběr vzorku slonoviny  
(foto Zdeněk Novák)*



*Použití alobalu u vzorku nosorožčího rohu  
(foto Pavla Říhová)*

### Chlupy

- Minimální množství je **7 mg**, ale vhodnější je odebrat větší vzorek.
- Odebírejte co nejdelší chlupy (snazší manipulace). Nezáleží na místě těla, odkud jsou chlupy odebírány, ale pozor na tzv. fake taxidermy (zhotovení preparátu z více jedinců).
- Vzorek umístíte do alobalu (přehnutý čtvereček), který poté vložíte do plastového sáčku. Umístění chlupů přímo do plastových sáčků je nevhodné kvůli statické elektřině.
- Pokud je to možné, odeberte z téhož jedince vzorky tvrdé tkáně (kost, zub) i vzorky chlupů. Tato kombinace výrazně zpřesní datování.

## Chemie

Existuje široké spektrum chemických metod, z nichž některé jsou využitelné i v případech wildlife crime. Konkrétní možnosti a postup je nejlhodnější předem konzultovat s příslušným odborným pracovištěm. U některých metod není třeba vzorky odebírat (např. měření pomocí spektrometrů), u jiných je však odebrání vzorku nutností. Zajištění vzorků může být zapotřebí provést přímo na místě (např. analýza krevních skvrn pomocí proteinů), v některých případech (např. analýzy dřeva) se vzorky odebírají až následně v místě uskladnění nebo v laboratoři.

### Použití spektrometrů

Existují různé typy spektrometrů (včetně mobilních typů), které provádí analýzu pouhým přiložením ke zkoumanému předmětu. Povrch měřeného předmětu musí být řádně očištěn, aby nebylo měření ovlivněno přítomností kontaminantů. Spektrometry identifikují látky nebo prvky, z nichž je předmět složen, **nejsou ale schopny určit konkrétní druh živočicha či rostliny**. Lze je využít k rozeznání padělků vyrobených z jiných materiálů např. k rozlišení pravé a falešné slonoviny (odliší umělý materiál, neurčí však, zda jde o slonovinu, mamutovinu, mrožovinu apod., neboť složení zubního materiálu je u všech savců víceméně shodné).

**RTG fluorescenční spektrometrie** identifikuje prvkové složení předmětu. Používají se přístroje Olympus ED-XRF DELTA, XRF VANTA, ProSpector 3 ad. Ve wildlife případech lze těmito spektrometry změřit např. přítomnost arsenu v taxidermických preparátech (vycpaninách). Arsenik se používal při preparaci zvířat jako konzervační činidlo cca do roku 1990, vysoká koncentrace arsenu je proto specifická pro staré preparáty.



*Měření slonoviny pomocí RTG fluorescenčního spektrometru Delta (foto Pavla Říhová)*

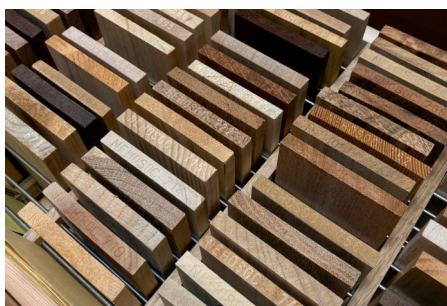
**Ramanova spektrometrie** slouží k identifikaci látek/směsí. Jde např. o přístroje TacticID či Progeny Resq. Těmito spektrometry lze měřit i na dálku a přes průsvitné obaly (např. tekutiny v lahvi), využívají se především pro detekci výbušnin, drog a chemikálií. K měření je používán laserový paprsek, při použití vyšších vlnových délek může dojít k poškození vzorku.



*Měření falešné rohoviny pomocí Ramanova spektrometru  
(foto Dominika Formanová)*

### Chemické analýzy

V ČR jsou chemické analýzy nejčastěji využívány pro **identifikaci konkrétního druhu dřeva** (Celně technická laboratoř). K analýze je nutno z předmětu odebrat vzorek. Odběr je vhodné nechat na laboratoři, obvykle stačí odebrání relativně malého množství hoblinek. K analýze jsou využívány hmotnostní spektrometry na bázi kapalinové či plynové chromatografie.



*Vzorky dřeva k srovnávacím analýzám  
(foto Zdeněk Novák)*

Různé typy chromatografií lze využít i k identifikaci druhů živočichů a rostlin v produktech tradiční čínské medicíny (např. stanovení přítomnosti medvědí žluči). V ČR však zatím není pracoviště, které by tyto analýzy provádělo.

### Proteinové analýzy

Analýzy proteinů mohou sloužit k identifikaci druhů živočichů např. z krevních skvrn, masa (i ve vařeném stavu) apod. Existují specifické immunoassay testy na rozlišení konkrétních druhů. Pro oblast wildlife je zatím známý pouze Bear Detection Kit (test na medvědí proteiny) vyvinutý ve Velké Británii, který slouží k rychlému ověření výrobků tradiční medicíny.



## Parazitologie

### Odběr ektoparazitů

- Odebírejte jemnou pinzetou, odstrižením pera, chlupů, seškrabem skalpelem...
- U mrtvých zvířat neodebírejte hmyz, který napadá tělo posmrtně (mouchy, červi, brouci), sbírejte pouze zjevné vnější parazity (klíšťata, vši, blechy atd.).
- Sebrané parazity umístěte do dobře uzavíratelných plastových nádobek s 96% ethanolem (nikoli denaturovaným). Objem ethanolu by měl být minimálně 5x, ideálně 10x větší než objem odebraného materiálu.
- Vzoroky skladujte v ledničce (cca +4 °C) případně v zamraženém stavu.



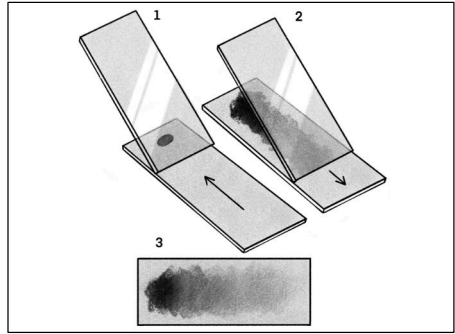
*Dospělec klíšěte Hyalomma aegyptium na želvě řecké (foto Jana Bulantová)*

### Odběr trusu

- Čerstvý trus sbírejte pomocí sterilního nástroje do plastového zip sáčku nebo do uzavíratelné plastové nádoby. Je nutno ztotožnit vzorek s posuzovaným jedincem (např. pokud je v ubikaci či zásilce více zvířat).
- Stačí odebrat vzorek o velikosti cca lískového ořechu, u fragmentované stolice (bobky) udělejte směsný vzorek (od jednoho ztotožněného jedince) z více kusů.
- Vzoroky skladujte zamražené, méně vhodné je skladování v 96% ethanolu.

## Odběr krve

- Odběry krve provádí veterinární lékař, obvykle při vyšetření zajištěných zvířat. Krev se odebírá do plastové nádoby.
- Vzorky čerstvé i sražené krve uchovávejte v zamraženém stavu nebo v 96% ethanolu.
- Pokud je krev čerstvá a nesražená, je vhodné zhotovit tzv. krevní roztěr - rozetřete kapku krve po mikroskopickém podložním sklíčku a nechte zaschnout.



*Postup při krevním roztěru na sklíčko  
(kresba David Říha)*

## Odběr vzorků orgánů, tkání aj.

- Odběr provádějte pomocí sterilního skalpelu či pinzety.
- Vzorky umístěte do plastových zip sáčků či zkumavek (dle typu vzorku).
- Uchovávejte v 96% ethanolu nebo v mrazáku při -20 °C.
- POZOR - fixování tkání v 10% formalínu (= 4% formaldehyd) používané pro případné histologické vyšetření tkání znemožní determinaci parazitů pomocí molekulárně biologických postupů.



*Všenky v peří kosa černého  
(foto Jana Bulantová)*



*Klíště Aponoma latum na kraljě  
královské (foto Jana Bulantová)*

## Forenzní entomologie

### Na místě

- K zajištění exemplářů hmyzu a jejich vývojových stádií využijte entomologické odběrové soupravy dodávané Kriminalistickým ústavem.
- Zajištění entomologických stop na místě nálezu kadáveru je neopakovatelný úkon. Zajistěte maximální množství hmyzu všech velikostí a tvarů a z různých míst na těle zvířete a v jeho okolí.
- Sběr provádějte pomocí pinzety, plastové lžice nebo špachtle. Změřte teplotu na místě ohledání a následně i při skladování stop.
- Primární místa výskytu hmyzu na mrtvém kadáveru zvířete jsou oči, tlama, nosní dírky, uši, oblast konečnicku, kožní záhyby a místa zranění. V pozdějším stadiu rozkladu se hmyz nachází kdekoli na těle.

- Entomologické stopy se ke znaleckému zkoumání předkládají primárně živé.

**Vzorky živého hmyzu odeberte do nádob s děrovanými víčky** (živý hmyz potřebuje vzduch). Různě vypadající larvy a vajíčka umístěte odděleně do více nádob. Zajistěte minimálně 200 ks vajíček, 200 ks larev a případně také 200 ks kulek do samostatných nádob. Nádoby naplňte max. do 1/4 či 1/3.

- Pro každý vzorek zaznamenejte datum, čas a místo, odkud byl vzorek odebrán (hlava, rána atd.).
- Sekundárně odeberte i usmrcený vzorek. Smrtící a konzervační roztok (při nedostatku speciálního roztoku použijte 96% ethanol) nalijte do nádoby a vložte hmyz, tj. všechny dospělce a larvy s končetinami, např. mouchy, brouky, larvy brouků, roztoče, přidejte reprezentativní vzorek vajíček, larev a kulek much.
- Vždy odeberte vzorky i z místa, kde kadáver leží (pod tělem) a z jeho okolí (larvy migrují ven z těla, laik nepozná, zda již tělo opustily či nikoli). Odeberte vzorky zeminy (do hloubky max. 5-10 cm) i s vegetací a hmyzem. Zpod těla kadáveru zajistěte 4-6 vzorků (po cca 250 ml, optimálně celkem 2-5 kg), z okolí kadáveru odebírejte vzorky paprskovitě do vzdálenosti 1-2 m, zajistěte 10-15 vzorků (po cca 250 ml, optimálně celkem 3-5 kg). Entomologický materiál není nutné ze zeminy vybírat.
- Sáčky se vzorky zeminy neplňte až nahoru, nevažte je těsně nad zeminou. Nad zeminou ponechte volný prostor a pevně zavažte.
- U zakopaného kadáveru zajistěte vegetaci a zeminu odebíranou při



*Larvy II. a III. instaru much čeledi bzučivkovití (Calliphoridae) na zvířecím kadáveru (foto Hana Šuláková)*

odkrývání těla (nad a kolem), optimálně vzorek o hmotnosti 5-10 kg. Je možné zajistit i entomologické stopy zaznamenané při pitvě.

- V případě nálezu kadáveru ve vodním prostředí (tělo plovoucí na hladině) zajistíte odděleně bezobratlé živočichy z částí těla nad a pod vodní hladinou, vodní druhy (korýši, měkkýši apod.) usmrťte a vložte do vhodné nádoby.

### Fotografická dokumentace

- Zdokumentujte charakter prostředí v okolí nálezu kadáveru.
- Před jakoukoli manipulací zdokumentujte pozici a umístění kadáveru zvířete v prostoru – přehledové fotografie, polodetaily a detaily.
- Zdokumentujte jakékoli faktory ovlivňující vývin hmyzu.

### Přeprava

- Pro přepravu vzorků živého hmyzu použijte nádoby s otvory ve víčku nebo dostatečně velké přepravní nádoby se vzduchovou kapsou.
- Usmrcený hmyz umístěte samostatně do sáčku (nevkládejte do nádob či sáčků spolu s živými vzorky – může dojít k nechtěnému usmrcení živého hmyzu výparů smrtícího roztoku). Sáčky či nádoby řádně uzavřete.
- Vzorky zeminy a hmyzu z okolí kadáveru označte detailním popisem, odkud byl vzorek odebrán.
- Pokud zajištěné stopy nejsou okamžitě převáženy na znalecké pracoviště, uložte vzorky co nejdříve do chladničky nebo chladné místnosti optimálně při teplotě 2-6 °C. Vzorky lze takto uchovávat maximálně 3 dny. **Nikdy vzorky nemrazte!**
- Při prevozu vzorků je nutno zabránit výrazné změně teploty (vystavení mrazu či horku v automobilu). Vhodné je např. použití termoboxu.



*Bzučivky rodu Lucilia (Diptera, Calliphoridae) při kladení vajíček do otevřených ran (foto Hana Šuláková)*



*Larvy mrchožrouta pobřežního (Necrodes littoralis) na zvířecím kadáveru (foto Hana Šuláková)*

## Analýza stabilních izotopů

Vzorky pro analýzu stabilních izotopů se **neodebírají přímo na místě zajištění stop**. Odběry se provádí až následně v místě uskladnění předmětů nebo v laboratoři. Vhodnější je, pokud odběry provede přímo expert na danou analýzu.

- Používejte sterilní nástroje a nádoby pro odběr vzorků, abyste zabránili kontaminaci.
- Pro odběr tkání použijte sterilní skalpel nebo nůžky.
- Krev odebírejte do sterilních zkumavek s vhodným konzervačním prostředkem.

- **Vzorky slonoviny** odřežte z klu pomocí malé ruční pily s jemnými zuby nebo odlomte pomocí kleští (u zpracované slonoviny je vhodnější použít minibrusku či vrtačku). Vzorky by měly být odříznuty z báze klu co nejbliže lebce. Báze je nejmladší částí klu, izotopový signál tedy odráží prostředí, ve kterém zvíře žilo před smrtí. Vzorky odebrané z okraje dřevové dutiny klu u jeho báze



*Odběr vzorků slonoviny pro analýzu stabilních izotopů (foto Jitka Kufnerová)*  
poskytnou geografickou informaci za posledních 6 až 12 měsíců. Hmotnost vzorku slonoviny by měla být **nejméně 30 mg** (velikost nehtu), vzorky odeberte minimálně dva (ze dvou různých poloh).

- Vzorky **želvího krunýře** odštípněte pomocí kleští či odřežte pomocí malé pilky. **Hadí svlečku** odeberte nejlépe celou, příp. odstříhnete adekvátní kus.
- Potřebná hmotnost vzorku záleží obecně na tom, který izotop má být analyzován, může se také lišit v závislosti na konkrétní analytické metodě a typu vzorku. Doporučujeme konzultovat požadavky na hmotnost vzorku s laboratoří, která bude konkrétní analýzu provádět. Nejvíce materiálu je zapotřebí pro analýzu stroncia, mělo by být odebráno cca 0.2 g vzorku (pokud je však v materiálu dostatečná koncentrace Sr, postačí i menší vzorek). Pro izotopy uhlíku, dusíku a síry by měl stačit vzorek o váze 500 µg - 1 mg, pro izotopy vodíku a kyslíku pak 150 µg.
- Vzorky umístěte do sterilních sáčků nebo nádob.
- Vzorky označte, včetně místa a data odběru. Vytvořte detailní záznamy o každém vzorku, při případných odběrech v terénu včetně GPS souřadnic místa odběru.
- Vzorky uchovávejte v chladu (např. v chladničce nebo přenosném chladičím boxu) a co nejdříve je transportujte do laboratoře.

## Další možné stopy či vzorky

Některé forenzní metody a postupy, které jsou využívány v běžné kriminalistické praxi (především u násilných trestných činů), mohou přinést důležité informace a důkazy i v případech wildlife crime. Přesto se však u objasňování této formy kriminality využívají v ČR zatím spíše minoritně.

### Otisky prstů (daktyloskopie)

V případech wildlife crime lze otisky prstů sejmout např.:

- ✓ z vnitřku pašovaných zásilek
- ✓ z nastražených pastí, želez, sklopců
- ✓ ze sklenic s uloženým jedem
- ✓ z vajec...

Daktyloskopické stopy lze analyzovat i genetickými postupy (analýza dotykové DNA).

V případech trávení zvířat doporučujeme **zkusit sejmout otisky ze skořápek otrávených vajec**. Při injekčním vpichování jedu osoba obvykle drží vejce pevně kolem jeho nejširší části, po aplikaci jedu otvor zalepí izolepou nebo voskem. Lze předpokládat, že při manipulaci s jedem použije rukavice, ale při manipulaci s vejci, s lepicí páskou nebo při umísťování vajec do terénu již rukavice mít nemusí. Otisk je relativně mastný, měl by určitou dobu vydržet i ve venkovním prostředí. K sejmutí postačí obyčejný magnetický prášek, využít lze pružnou pásku používanou na snímání otisků ze žárovek.

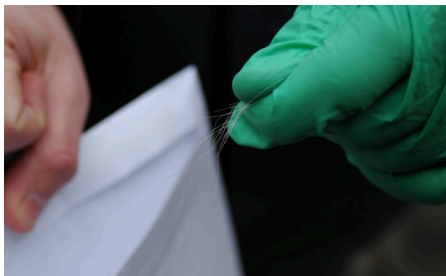
### Vlákna, vlasy, chlupy (trichologie)

Příklady možného použití v případech wildlife crime:

- ✓ vlákna z oděvu nebo lana zachycená o kůru stromů, skálu apod. při nelegálním vybírání hnízd dravců
- ✓ srst v kufříku auta osoby podezřelé z pytláctví
- ✓ srst v dílně, kde došlo ke zpracování kadáveru, nebo zachycená na použitých nástrojích
- ✓ srst z nastražených a použitých želez...

- Místo nálezu trichologického materiálu vyfotografujte před zajištěním a jakoukoliv manipulací - přehledové fotografie, polodetaily, detaily. Vyfotografujte přesně vyznačená místa odběru.
- Trichologický materiál odebírejte sterilní pinzetou. Nepoužívejte lepicí pásky ani želatinové fólie. Pokud je to možné, chlupy pevně ulpělé na věci zajistěte i s podkladovým předmětem. V případě kožesinových výrobků zajistěte výrobky celé.
- Vzorky uložte do prodyšných obalů (papírové obálky) kvůli vysychání. Trichologický materiál nikdy neočišťujte, ani neoplachujte. Plně vyschlý materiál lze uložit do uzavíratelných plastových obalů.

- Srovnávací vzorky chlupů se odebírají tak, aby zachytily celkovou variabilitu srsti daného zvířete jak z hlediska typu chlupů (podsada, pesíky, vibrisy), tak i délky, barvy, zvlnění atd. Odebírají se z různých částí těla - standardně z čela, oblasti mezi rameny, stehna zadní nohy, hrudi, břicha, ocasu a svrchní strany tlapy.



*Trichologický materiál ukládejte primárně do papírových obálek (foto Zdeněk Novák)*

## Otisky stop, pneumatik a nástrojů

Příklady možného použití v případech wildlife crime:

- ✓ stopy po obuvi, pneumatikách na místě otravy či zabití volně žijících zvířat
- ✓ stopy po lezeckém železe na stromě
- ✓ otisky kleští použitých k úpravě či nastražení pastí
- ✓ zkoumání identifikačních kroužků ptáků, mohou být poškozeny/upraveny
- ✓ stopy po noži či nástrojích sloužících k zabití či zranění zvířete (zvláště pokud se dostaly do styku s kostmi)...

## Půda, zbytky rostlin, barev, kovů ad.

Příklady možného použití v případech wildlife crime:

- ✓ zbytky půdy na nástrojích sloužících k zakopání kadáveru
  - ✓ zbytky půdy či rostlin ve vzorku pneumatik či obuvi
  - ✓ kůra a lišejníky na oděvu/šplhacích železech použitých k lezení na strom při vybírání hnízd
  - ✓ zbytky půdy na slaňovacím laně/horolezeckém vybavení použitém k vybírání hnízd dravců na skále
  - ✓ střepy, úlomky z nástrojů, vozidel, přepravních beden či dalšího materiálu, který může s nelegální činností souviset...
- Čerstvý rostlinný materiál uchovávejte v prodyšných obalech (papírové sáčky, obálky, pytle, sáčky Stericlin) v suchu při pokojové teplotě. U vyschlého materiálu lze použít plastové obaly. Mikrostopy rostlinného původu zajistěte primárně spolu s nosičem (např. oblečení, kůra) nebo odeberte vzorek seškrabem do plastové zkumavky, případně olepem na transparentní želatinovou fólii.
  - Vzorek pylu odeberte na sterilní vatový tampon. Tampon vložte do pouzdra/zkumavky, do víčka udělejte sterilními nůžkami otvor (přístup vzduchu). Zkumavku vložte do prodyšného obalu (papírová obálka).
  - V případě dřeva zajistěte vzorek o velikosti minimálně 1 cm<sup>3</sup>.
  - Vzorky zeminy balte do prodyšného materiálu (vysychání).

## Ochranné pomůcky, osobní bezpečnost

Během manipulace s živými i neživými exempláři živočichů či rostlin a odběru vzorků může dojít k ohrožení zdraví pracovníků. Kromě případných zranění způsobených živými zvířaty (manipulace s živými zvířaty není předmětem této metodiky) hrozí rovněž riziko přenosu zoonotických patogenů zejména virového a bakteriálního původu. Největším rizikem pro člověka jsou patogeny primátů a masožravců. Riziková jsou rovněž místa, kde kálí ptáci a hlodavci a kde se akumuluje trus.

K přenosu zoonóz dochází v důsledku poranění (ostré zobáky, drápy, kosti...), nedostatečné hygieny při práci nebo vdechnutím spor z aerosolu při manipulaci s kadávery, prachu kontaminovaného trusem apod.

Při zajišťování biologických stop a odběru vzorků proto **vždy používejte ochranné pomůcky, nejlépe jednorázové!**

Při manipulaci s kadávery zvířat jsou naprostým základem jednorázové nitrilové rukavice (v některých případech se používají i dvojité), ochranný oblek a krycí návleky na boty (příp. gumové boty). Ochranné brýle (nebo štít), rouška či respirátor zabraňují vdechnutí kontaminovaného aerosolu či prachu.

### **Doporučené ochranné pomůcky:**

- ✓ jednorázové nitrilové rukavice
- ✓ ochranný oblek Tyvek
- ✓ gumové boty (příp. jednorázové návleky)
- ✓ rouška, respirátor
- ✓ ochranné brýle
- ✓ papírové utěrky
- ✓ desinfekční sprej
- ✓ desinfekční ubrusky (např. Mikrocid AF)
- ✓ antibakteriální mýdlo
- ✓ základní lékárnička

## Hygiena

Při manipulaci s biologickým materiálem a vzorky nejezte, nepijte, nekuřte a nedotýkejte se obličeje. Dlouhé vlasy si stáhněte dozadu nebo skryjte pod jednorázovou pokrývkou hlavy.

Po manipulaci si důkladně umyjte ruce antibakteriálním mýdlem po dobu nejméně 20 sekund. Ruce zcela osušte. Jakékoli škrábance, řezné rány, vpichy, postříkání tekutinou apod. je třeba důkladně vypláchnout vodou a omýt antibakteriálním mýdlem. O riziku expozice informujte nadřízeného.

Veškeré vybavení, které není na jedno použití, musí být po skončení práce důkladně vyčištěno a dezinfikováno. K očištění pracovních ploch či znečištěných nádob použijte desinfekční činidla na bázi ethanolu (min. 70%) nebo chlóru (10% bělidlo).



Jednorázové ochranné prostředky po použití vložte do uzavíratelných pytlů a zlikvidujte vhodným způsobem. V případě vysokého rizika použijte pytle či kontejnery na biologický rizikový odpad a likvidaci adekvátní tomuto typu materiálu. Kontejnery na infekční odpad by měly být při převozu bezpečně připevněny v nákladovém prostoru vozidla, nepřevážte je v prostoru pro cestující. Opakovaně dezinfikujte pytle a kontejnery zvenčí postříkáním dezinfekčním prostředkem.



*Zajišťování biologického materiálu v tygří varně při Operaci Trophy  
(foto Celní správa)*



*Otrávený luňák červený (foto Klára Hlubocká/ČSO)*

# Zásady forenzní manipulace

## Pozor na kontaminaci

Zejména při manipulaci s předměty, z nichž je třeba analyzovat DNA

Používejte ochranné pomůcky

- rukavice (lépe dvojce - před manipulací s dalším předmětem vrchní vyměňte)
- ochranný oděv
- roušku (při manipulaci nekašlete a nekýchejte)

## Zdraví a bezpečnost

Chraňte sebe i ostatní

Eliminujte riziko přenosu nákaz

- dodržujte hygienu, při práci nejezte, nepijte, nedotýkejte se obličej
- Předměty balte vhodným způsobem
- obalte ostré položky (kosti, drápy, nože, paroží ...)
  - zabraňte únikům tekutin a pachů při přepravě (použijte vhodné nádoby)

## Integrita

Zajistěte, aby předměty zůstaly ve stejném stavu, v jakém byly nalezeny

Zajistěte ochranu možných důkazů

- vlhké předměty nedávejte do neprodyšných obalů (pokud je bezprostředně nemrazíte)
  - pozor na setření otisků prstů
- Přesně zaznamenejte všechny údaje na příslušný štítek
- popis
  - lokalita, datum a čas
  - další relevantní údaje

## Zabezpečení

Zabezpečte zajištěné předměty proti neoprávněné manipulaci

Zajistěte, aby byl obal uzavřen/zapečetěn

- použijte obaly s ochranou proti manipulaci
- použijte bezpečnostní pásky a plomby

## Kontinuita

Každý, kdo s předmětem manipuloval, či s ním přišel do styku, musí být zaznamenán

Každé předání předmětu musí být zdokumentováno

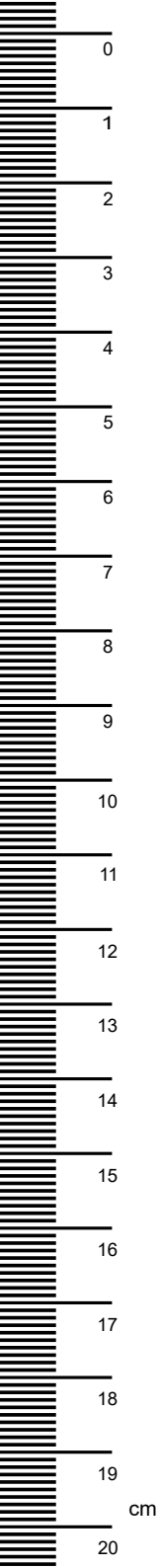
- na štítku předmětu/protokolu se podepíše a uvede datum úkonu

## Uskladnění

Zajistěte správné uskladnění předmětů, aby nedošlo k jejich znehodnocení

Dle typu předmětu skladujte v suchu, v chladu, nebo v mrazáku

V případě jakýchkoli pochybností se poraďte s vyšetřovatelem nebo s příslušnou laboratoří



0

1

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

cm

20